DOI:10.11931/guihai.gxzw202308065

高山植物唐古红景天叶绿体基因组特征及系统发育分析

曲荣举[1]，才让扎西[1]，毛轩睿[1]，刘玉萍[1,2,3]，苏旭[1,2,3*]，胡夏宇[1]，

杨萍[1]，李小莉[1]，孙成林[1]，靳佳瑞[1]

（1. 青海师范大学 生命科学学院，西宁 810008；2. 青海师范大学青海省青藏高原生物多样性形成机制与综合利用重点实验室，西宁 810008；3. 青海师范大学高原科学与可持续发展研究院，西宁 810016）

摘 要：为了明确西北地区重要药用植物唐古红景天（*Rhodiola tangutica*）的叶绿体基因组结构特点、基因信息和系统发育关系，该研究利用 Illumina NovaSeq6000 对基因组进行了测序，运用 GeSeq、PGA、NOVOPlasty、IRscope、MISA 等多种生物信息学分析软件对其结构、基因功能和亲缘关系进行分析。结果表明：（1）唐古红景天的叶绿体基因组呈四分体环状结构，由 82 121 bp LSC、16 996 bp SSC 和 25 873 bp IR 区构成，全长 150 863 bp，总 GC 含量为 37.8%，IR 区 GC 含量最高（42.9%）；编码 131 个基因，包括 85 个 PCGs、38 个 tRNAs 和 8 个 rRNAs。(2)检测到 32 471 个密码子，其中编码半胱氨酸(Cys)最少(1.18%)、异亮氨酸（Ile）密码子占比最多（8.24%），29 种密码子的 RSCU 值均大于 1。（3）IR 区分析显示，*rps19* 和 *ndhF* 均向 IRB 扩张。（4）系统发育分析表明，唐古红景天与四裂红景天（*Rhodiola quadrifida*）的亲缘最近，分歧时间估计显示红景天属 *Rhodiola* 物种的起源时间平均为 15.50 Mya（95% HPD：6.0-21.0 Mya）。该研究明晰了唐古红景天的叶绿体基因组特征，获得了红景天属物种较为合理的系统发育关系，为红景天属遗传多样性研究、适应性进化机制讨论以及种质资源保护等提供了理论依据。

关键词：红景天属，唐古红景天，叶绿体基因组，系统发育，密码子偏好性

中图分类号：Q949.4, Q941　　**文献标志码：**A　　**doi：**

基金项目：第二次青藏高原综合科学考察研究项目（2019QZKK0502）；青海省自然科学基金面上项目（2022-ZJ-913）。

第一作者：曲荣举（2000—），硕士研究生，研究方向为高山植物遗传多样性和系统进化研究，（E-mail）QU203462@163.com。

***通信作者：**苏旭，博士，教授，研究方向为高山植物遗传多样性和系统进化研究，（E-mail）xusu8527972@126.com。

Characteristics of chloroplast genome and phylogenetic analysis of alpine plant *Rhodiola tangutica* (Crassulaceae)

QU Rongju[1], CAI Rangzhaxi[1], MAO Xuanrui[1], LIU Yuping[1,2,3], SU Xu[1,2,3*], HU Xiayu[1],

YANG Ping[1], LI Xiaoli[1], SUN Chenglin[1], JIN Jiarui[1]

（1. *School of Life Sciences, Qinghai Normal University*, Xining 810008; **2.** *Key Laboratory of Biodiversity Formation Mechanism and Comprehensive Utilization of the Qinghai-Tibet Plateau in Qinghai Province, Qinghai Normal University*, Xining 810008; **3.** *Academy of Plateau Science and Sustainability, Qinghai Normal University*, Xining 810016)

Abstract: In order to explore the structure characteristics, gene information and phylogenetic relationship of the chloroplast genome for *Rhodiola tangutica*, which is an important medicinal plant growing in Northwest China, this study sequenced its complete chloroplast genome using the high-throughput sequencing technology with Illumina NovaSeq6000. We analyzed the genome structure, gene function and genetic relationship of the chloroplast genome based on NOVOPlasty, GeSeq, PGA, IRscope and MISA. The results were as follows: (1) The chloroplast genome of *R. tangutica* had a typical and quadripartite circular structure of 150 863 bp in length, including LSC (82 121 bp), SSC (16 996 bp) and IR (25 873 bp). Total GC content was 37.8%, among which the IR regions had the highest (42.9%). The genome encoded 131 genes in total, including 85 PCGs, 38 tRNAs and eight rRNAs. (2) Among the 32 471 codons, cysteine (Cys) had the smallest percentage (1.18%), while isoleucine (Ile) had the highest (8.24%). There were 29 codons with the value of RSCU above one. (3) The analysis of IR regions showed that both *rps19* and *ndhF* were expanded into the IRB region. (4) Phylogenetic analysis indicated that *R. tangutica* and *R. quadrifida* had the closest relationship. Estimates of divergence times indicated that the origin of *Rhodiola* species was estimated to be around 15.50 Mya (95% HPD: 6.0-21.0 Mya). In this study, we clarified the chloroplast genome characteristics of *Rhodiola tangutica* and obtained a reasonable phylogenetic relationship of *Rhodiola*, which provided a theoretical basis for the study of genetic diversity, the discussion of adaptive evolutionary mechanism and the protection of germplasm resources of *Rhodiola.*

Key words: *Rhodiola*, *Rhodiola tangutica*, chloroplast genome, phylogeny, codon preference

叶绿体是绿色植物进行光合作用和能量转换的一种重要半自主性细胞器（Corriveau et al., 1988; 苏丹丹等，2022），可将太阳能转换为化学能，在营养物质积累、生长发育及耐逆性方面具有重要作用（Suzuki et al., 2012; 宋菊等，2017）。被子植物的叶绿体基因组大小通常介于 120～180 kb，多数为母系遗传，部分物种是双亲或父系遗传，结构高度保守，进化速率慢（杨亚蒙等，2019；郑长远等，2022）；具有典型的环状四段式结构，由大单拷贝区（large single copy，LSC）、小单拷贝区（small single copy ，SSC）和反向重复区 A（inverted repeats A，IRA）和反向重复区 B（inverted repeats B，IRB）构成；叶绿体基因组常编码 110～130 个基因（Daniell et al., 2016; Raman et al., 2020; Xu et al., 2020），现已被广泛应用于物种分类和鉴定（Jansen et al., 2006; 梁凤萍等，2018；姜汶君等，2020）、系统发育关系（Jansen et al., 2006; 张东旭等，2021）、群体遗传结构（Twyford et al., 2017; 余涛等，2022）及物种形成机制（刘潮等，2023）等诸多研究领域。譬如，高鑫祯等（2023）通过对珍稀濒危飘带兜兰（*Paphiopedilum parishii*）叶绿体基因组的特征分析，发现 SSRs、长序列重复、SNPs、InDels 及核苷酸序列均呈较高的种内多样性，飘带兜兰 6 个个体的叶绿体基因组序列聚在一起且与长瓣兜兰互为姊妹群；江转转等（2023）基于叶绿体基因组比较了栝楼属（*Trichosanthes*）的演化关系，结果表明栝楼属植物叶绿体基因组存在序列重排，参试物种形成两大分支，栝楼属与藏瓜属（*Indofevillea*）的亲缘最近，认为基因的正向选择是导致栝楼群体分化的主要原因。

唐古红景天（*Rhodiola tangutica*）是景天科（Crassulaceae）、红景天属（*Rhodiola*）的一种重要的多年生药用植物，主要分布于我国西北地区，通常生长于海拔 2 000～4 700 m 的高山石缝和近水边（中国科学院中国植物志编委会，1984）。作为一种传统的中藏药临床药材，唐古特红景天主治体弱气短、气虚乏力、肺热咳喘等；根、茎均可入药，具有退烧、补气、养心、清肺、消肿等多种功效（贺美艳等，2012）。当代药理学认为，唐古特红景天具有抑癌、提高免疫力、除菌抗炎、抗疲劳等功效（何淑玲等，2013）。目前，许多学者对唐古红景天的种子萌发特性（何淑玲等，2013）、化学成分（李瓈等，2014）、药理作用（王秀清等，

1992；贾建昌等，2005）和种质资源（史国民等，2021）等进行了研究。例如，何淑玲等（2013）利用不同浓度的尿素处理唐古红景天种子，结果发现 0.3 g·L^{-1} 尿素处理能显著提高种子的发芽率、发芽势和发芽指数等，当浓度高于 0.3 g·L^{-1} 时则显著抑制种子萌发；李瑬等（2014）采用不同极性的溶剂提取唐古红景天的化学成分，发现主要含有烷烃、醇、酮、酯类等物质且红景天苷的含量明显高于大花红景天的含量；史国民等（2021）为确定唐古红景天诱导愈伤组织的最优外植体及对应的最佳激素配比，利用幼嫩叶、茎和根为外植体进行不同激素配比对愈伤组织增殖的影响实验，筛选出最优的外植体为叶片，培养基配比为 MS+6-BA（0.5 mg·L^{-1}）+NAA（0.5 mg·L^{-1}），这些研究为其种质资源保存和人工驯化栽培提供了基础数据。然而，目前关于唐古红景天叶绿体基因组结构和特征以及系统发育关系的研究尚未报道。据此，本研究以唐古红景天叶绿体基因组为研究对象，利用高通量测序技术进行测序，采用 NOVOPlasty、GeSeq、PGA、IRscope、MISA 等多种生物信息学分析软件，拟探讨以下问题：（1）唐古红景天叶绿体基因组结构特征；（2）基因数量、功能及分布情况；（3）SSR 位点数量及特征；（4）基因选择压力情况；（5）基因收缩与扩张情况；（6）红景天属物种系统发育关系及唐古红景天系统位置。

1 材料与方法

1.1 实验材料

唐古红景天新鲜叶片采自青海省海西州德令哈市哈拉湖南岸（38°11′44.8″N，97°36′1.33″E，海拔 4 056 m），新鲜叶片放入材料袋后置于装满硅胶的密封收集盒中干燥保存。凭证标本保存于中国科学院西北高原生物研究所青藏高原生物标本馆（HNWP）。

1.2 实验方法

1.2.1 基因组 DNA 提取和测序

唐古红景天的基因组 DNA 采用改良的 CTAB 法（Doyle & Doyle, 1987; Tai & Tanksley, 1990）进行提取；并依次使用 1%琼脂糖凝胶电泳、Nanodrop、Qubit 2.0 荧光定量仪对 DNA 的完整性、纯度（OD260/280）和浓度进行质量检测。质检合格的 DNA 样品于 Covaris 超声波破碎仪进行随机打断，并经序列末端修复、

加 A 尾和测序接头、纯化、PCR 扩增等过程完成文库构建和质检，随后利用 Illumina NovaSeq6000 高通量测序平台对小片段文库测序。

1.2.2 叶绿体基因组组装和注释

以红景天（*R. rosea*）的叶绿体基因组序列（GenBank：MH410216）为参考，采用 NOVOPlasty 软件（Dierckxsens et al., 2017; Ding et al., 2020）默认设置下组装唐古红景天的叶绿体基因组；利用 GeSeq 软件（Tillich et al., 2017）和 PGA 软件（Qu et al., 2019）对其分别进行基因注释，参数设置为默认，结合两种软件的注释结果进行人工手动校正，去除错误和冗余；通过在线工具 OGDRAW（Lohse et al., 2013）进行指纹图谱可视化；完整的序列及注释信息上传至美国国家生物技术信息中心 NCBI 网站（GenBank：OR120372）。

1.2.3 密码子偏好性和 SSR 位点分析

利用在线程序 MISA（Beier et al., 2017）检测唐古红景天叶绿体基因组的简单重复序列（SSRs），单核苷酸设置为 10 次最小重复数、二核苷酸 5 次、三核苷酸 4 次、四至六核苷酸 3 次，同时运用 CodonW 软件（Sharp & Li, 1987; Shields & Sharp, 1987）统计分析唐古红景天叶绿体基因组的密码子偏好性。

1.2.4 IR 边界区收缩和扩张与选择压力分析

将唐古红景天与其近缘种长鞭红景天（*R. fastigiata*）、大花红景天（*R. crenulata*）、圣地红景天（*R. sacra*）、狭叶红景天（*R. kirilowii*）、四裂红景天（*R. quadrifida*）和喜马红景天（*R. himalensis*）的叶绿体基因组序列进行比较并确定基因组的变异热点，利用 IRscope 软件（Amiryousefi et al., 2018）可视化红景天属 7 个物种的叶绿体基因组 LSC/IRB/SSC/IRA 边界区差异。

以圣地红景天（*R. sacra*）作为参照，利用 DnaSP v5 软件（Librado et al., 2009）计算所有蛋白编码基因在唐古红景天（*R. tangutica*）、四裂红景天（*R. quadrifida*）、狭叶红景天（*R. kirilowii*）和喜马红景天（*R. himalensis*）的 Ka/Ks 比值。

1.2.5 系统发育分析和分歧时间估计

从 NCBI 数据库下载唐古红景天 23 个近缘种的叶绿体基因组序列，以蔷薇科（Rosaceae）、李属（*Prunus*）、欧李（*Prunus humilis*）为外类群，利用 MAFFT 软件（Katoh et al., 2002）默认设置下进行多序列比对，序列经 Gblock 剪切后使用 ModelFinder 筛选最优核苷酸替换模型，应用 PhyloSuite 软件包中的 IQ tree 软

件构建最大似然树（maximum likelihood ，ML）进行系统发育分析（Guindon et al., 2010; Nguyen et al., 2015），步长值（Bootstrap values）设置为 5 000。

红景天属物种化石记录通过文献查找（Zhang et al., 2014）结合 TimeTree Database 在线网站（http://www.timetree.org/）进行查询，获取到四裂红景天（*R. quadrifida*）与狭叶红景天（*R. kirilowii*）的分歧时间为 0.93 至 3.33 百万年前（Million Years Ago，Mya），背药红景天（*R. hobsonii*）和大果红景天（*R. macrocarpa*）的分歧时间为 6.32-20.23 Mya。利用 PAML 软件包中的 MCMCTree 软件估算红景天属物种的分化时间，获取参数使用 approximate 方法，速率相关的分子钟和 JC69 替代模型，做两次重复计算，观察一致性（本次试验两次重复的相关性是 1），验证 MCMCTree 软件结果是否收敛。

2 结果与分析

2.1 叶绿体基因组基本特征

本研究测序获得 8 704 701 条 2.6 G Raw Reads，数据过滤后得到 8 489 447 条 2.55 G Clean Reads。唐古红景天叶绿体基因组组装后全长 150 863 bp，由一对反向重复序列（IRA 和 IRB，各 25 873 bp）、一个大单拷贝（LSC，82 121 bp）和一个小单拷贝（SSC，16 996 bp）组成，隶属于典型的四分体环状结构（图 1，表 1）；总 GC 含量为 37.8%，其中 IR 区 GC 含量最高（42.9%），LSC 和 SSC 区 GC 含量分别为 35.8%和 31.8%; 唐古红景天叶绿体基因组共编码 131 个基因，包含 8 个核糖体 RNA（rRNAs）、38 个转运 RNA（tRNAs）和 85 个蛋白编码基因（PCGs），其中 86 个基因位于 LSC 区、13 基因位于 SSC 区、18 个基因位于 IR 区; IR 区基因由 4 个 rRNA（*rrn23*、*rrn4.5*、*rrn16*、*rrn5*），7 个 tRNA（*trnI-GAU*、*trnL-CAA*、*trnI-CAU*、*trnR-ACG*、*trnV-GAC*、*trnA-UGC*、*trnN-UGG*），5 个 PCGs（*rpl23*、*rps12*、*rpl2*、*ndhB*、*rps7*）和 2 个功能未知的基因（*ycf2* 和 *ycf1*）组成（表 1，表 2）。此外，唐古红景天叶绿体基因组中 *clpP1* 和 *rps12* 含有 2 个内含子，*petB*、*petD*、*atpF*、*ndhA*、*ndhB*、*rpoC1*、*rpl2*、*trnK-UUU*、*trnL-UAA*、*trnA-UGC*、*trnG-UCC*、*trnI-GAU*、*trnV-UAC* 含 1 个内含子，上述这些基因包含 9 个蛋白编码基因和 6 个 tRNAs，而其他基因均不含内含子（表 2）。

表 1 唐古红景天叶绿体基因组特征信息

Table 1 The characteristics of the complete chloroplast genome for *Rhodiola tangutica*

类别 Category	项目 Item	特征 Characteristics
叶绿体基因组结构 Construction of the chloroplast genome	LSC 区域 LSC region	82 121 bp
	IRA 和 IRB 区域 IRA and IRB regions	25 873 bp
	SSC 区域 SSC region	16 996 bp
	叶绿体基因组大小 Size of the chloroplast genome	150 863 bp
基因含量 Gene content	基因总数 Total genes	131
	蛋白编码基因 Protein-coding genes	85
	转运 RNA tRNA	38
	核糖体 RNA rRNA	8
	重复基因 Duplicate genes	18
	LSC 区域的基因 Genes on LSC region	86
	IRA 和 IRB 区域的基因 Genes on IRA and IRB regions	18
	SSC 区域的基因 Genes on SSC region	13
GC 含量 GC content (%)	LSC 区域的 GC 含量 GC content of LSC region	35.8
	IRA 和 IRB 区域的 GC 含量 GC content of IRA and IRB regions	42.9
	SSC 区域的 GC 含量 GC content of SSC region	31.8
	总 GC 含量 Overall GC content	37.8

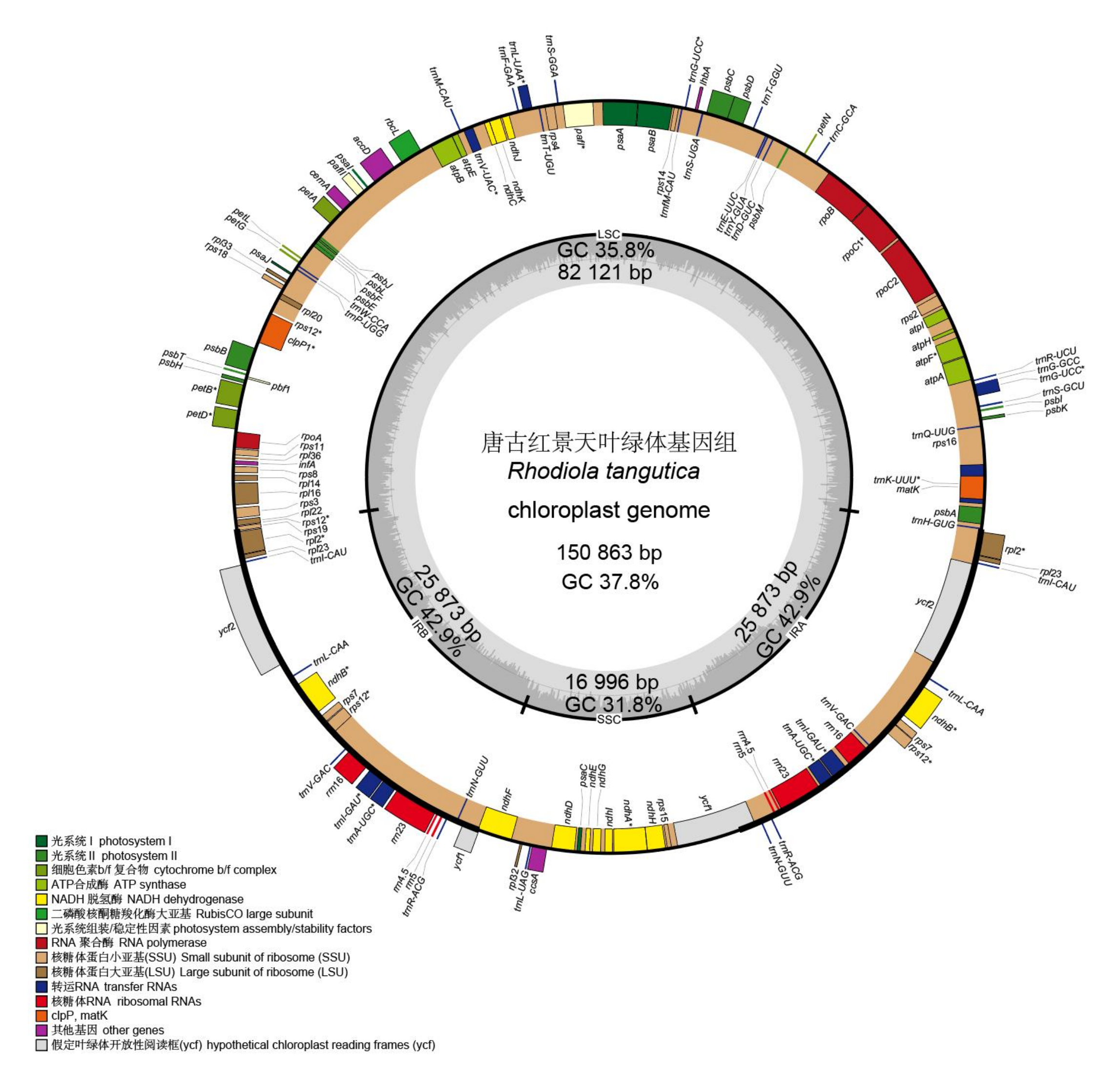


图 1 唐古红景天叶绿体基因组环形图谱

Fig. 1 Circularized map of chloroplast genome for *Rhodiola tangutica*

表 2 唐古红景天叶绿体基因组注释信息

Table 2 Annotation information of chloroplast genome for *Rhodiola tangutica*

基因类别 Gene category	基因分组 Gene group	基因名称 Gene name
光合作用基因 Genes for photosynthesis	光系统 I 亚基 Subunit of photosystem I	*psaA*，*psaB*，*psaC*，*psaJ*，*psaI*
	光系统 II 亚基 Subunit of photosystem II	*psbA*，*psbB*，*psbC*，*psbD*，*psbE*，*psbF*，*psbH*，*psbI*，*psbJ*，*psbK*，*psbL*，*psbM*，*psbT*，*pbf1*，*lhbA*
	细胞色素 b/f 复合体亚基 Subunit of cytochrome b/f complex	*petA*，*petB*[a]，*petD*[a]，*petG*，*petL*，*petN*
	ATP 合成酶亚基 Subunit of ATP synthase	*atpA*，*atpB*，*atpE*，*atpF*[a]，*atpH*，*atpI*

	NADH 脱氢酶亚基 Subunit of NADH dehydrogenase	*ndhA*[a]，*ndhB*[a*]，*ndhC*，*ndhD*，*ndhE*，*ndhF*，*ndhG*，*ndhH*，*ndhI*，*ndhJ*，*ndhK*
	二磷酸核酮糖羧化酶大亚基 RubisCO large subunit	*rbcL*
	DNA 依赖性 RNA 聚合酶 DNA dependent RNA polymerase	*rpoA*，*rpoB*，*rpoC1*[a]，*rpoC2*
	核糖体小亚基 Small subunit of ribosome	*rps2*，*rps3*，*rps4*，*rps7*，*rps11*，*rps12*[b#]，*rps14*，*rps15*，*rps16*，*rps18*，*rps19*
	核糖体大亚基 Large subunit of ribosome	*rpl2*[a*]，*rpl14*，*rpl16*，*rpl19*，*rpl20*，*rpl22*，*rpl23*，*rpl32*，*rpl33*，*rpl36*
自我复制基因 Self replication	转运 RNA Transfer RNA	*trnA-UGC*[a*]，*trnC-GCA*，*trnD-GUC*，*trnE-UUC*，*trnF-GAA*，*trnfM-CAU*，*trnG-UCC*[a]，*trnG-GCC*，*trnH-GUG*，*trnI-GAU*[a*]，*trnI-CAU*，*trnK-UUU*[a]，*trnL-UAG*，*trnL-CAA*，*trnL-UAA*[a]，*trnM-CAU*，*trnN-GUU*，*trnP-UGG*，*trnQ-UUG*，*trnR-UCU*，*trnR-ACG*，*trnS-UGA*，*trnS-GCU*，*trnS-GGA*，*trnT-UGU*，*trnT-GGU*，*trnV-GAC*，*trnV-UAC*[a]，*trnW-CCA*，*trnY-GUA*
	核糖体 RNA Ribosomal RNA gene	*rrn4.5*，*rrn5*，*rrn16*，*rrn23*
	翻译起始因子 Translation initiation factor	*infA*
	成熟酶 Maturase	*matK*
	包膜蛋白 Envelope protein	*cemA*
其他基因 Other genes	c 型细胞色素合成基因 C-type eytochrome synthesis gene	*ccsA*
	乙酰辅酶 A 羧化酶亚基 Submit of acetyl-CoA-carboxylase	*accD*
	ATP 依赖的蛋白酶亚基 P ATP-dependent protease subunit P	*clpP1*[b]
未知功能基因 Genes of unknown function	开放阅读框 Conserved open reading frame	*ycf1*，*ycf2*

注：[a] 表示基因含有 1 个内含子；[b] 表示基因含有 2 个内含子；* 表示含有 2 个拷贝基因；# 表示含有 3 个拷贝基因。

Note：**a** separately present an intron in protein-coding genes；**b** separately present two introns in protein-coding genes； * present two copies of genes；# present three copies of genes.

2.2 密码子偏好性

唐古红景天叶绿体基因组密码子偏好性分析结果显示，104 条 CDS 序列的编码基因包含 32 471 个密码子，代表 23 种氨基酸（图 2，表 3）。这些密码子中，编码亮氨酸（Leu）的密码子占比最多（10.79%），其次是编码丝氨酸（Ser）

（8.39%）和异亮氨酸（Ile）（8.24%）的密码子，半胱氨酸（Cys）最少，仅 1.18%（表 3）。相对同义密码子使用值（RSCU）大于 1 的简并密码子共 29 种（表 3），表明唐古红景天叶绿体基因组中密码子存在使用偏倚，其中编码精氨酸（Arg）的密码子 AGA 使用偏倚最高，为 1.803；几乎所有相对同义密码子使用值大于 1 的密码子均以 A/U 结尾（UUG 除外）。此外，Trp 和 Met 仅由一个密码子编码，没有密码子偏好（图 2）。

表 3 唐古红景天各氨基酸相对同义密码子使用度分析

Table 3 RSCU analysis of protein-coding region in *Rhodiola tangutica*

氨基酸 Amino acid	密码子 Codon	数量 Number	RSCU	比例 Ratio (%)
Phe	UUU	1 233	1.297	5.86
	UUC	669	0.703	
Ser	UCU	742	1.667	8.39
	UCC	437	0.982	
	UCA	545	1.224	
	UCG	277	0.622	
	AGU	571	1.161	
	AGC	153	0.344	
Tyr	UAU	947	1.63	3.58
	UAC	215	0.37	
Cys	UGU	270	1.414	1.18
	UGC	112	0.586	
Trp	UGG	582	1.00	1.79
Leu	CUU	762	1.305	10.79
	CUC	240	0.411	
	CUA	514	0.88	
	CUG	238	0.408	
	UUA	1 043	1.786	
	UUG	707	1.211	
Pro	CCU	495	1.488	4.10
	CCC	277	0.832	
	CCA	370	1.112	
	CCG	189	0.568	
His	CAU	621	1.505	2.54
	CAC	204	0.495	
Gln	CAA	873	1.51	3.56
	CAG	283	0.49	
Arg	CGU	387	1.22	5.86

	CGC	119	0.375	
	CGA	453	1.428	
	CGG	142	0.447	
	AGA	572	1.803	
	AGG	231	0.728	
	AUU	1 284	1.44	
Ile	AUC	550	0.617	8.24
	AUA	841	0.943	
Met	AUG	766	1.00	2.36
	ACU	674	1.673	
Thr	ACC	270	0.67	4.96
	ACA	491	1.219	
	ACG	176	0.437	
Asn	AAU	1 238	1.503	5.07
	AAC	409	0.497	
Lys	AAA	1 300	1.47	5.45
	AAG	469	0.53	
	GUU	632	1.488	
Val	GUC	211	0.497	5.23
	GUA	610	1.436	
	GUG	246	0.579	
	GCU	705	1.774	
Ala	GCC	242	0.609	4.90
	GCA	481	1.21	
	GCG	162	0.408	
Asp	GAU	1 105	1.595	4.27
	GAC	281	0.405	
Glu	GAA	1 278	1.473	5.34
	GAG	457	0.527	
	GGU	680	1.283	
Gly	GGC	197	0.372	6.53
	GGA	862	1.626	
	GGG	381	0.719	

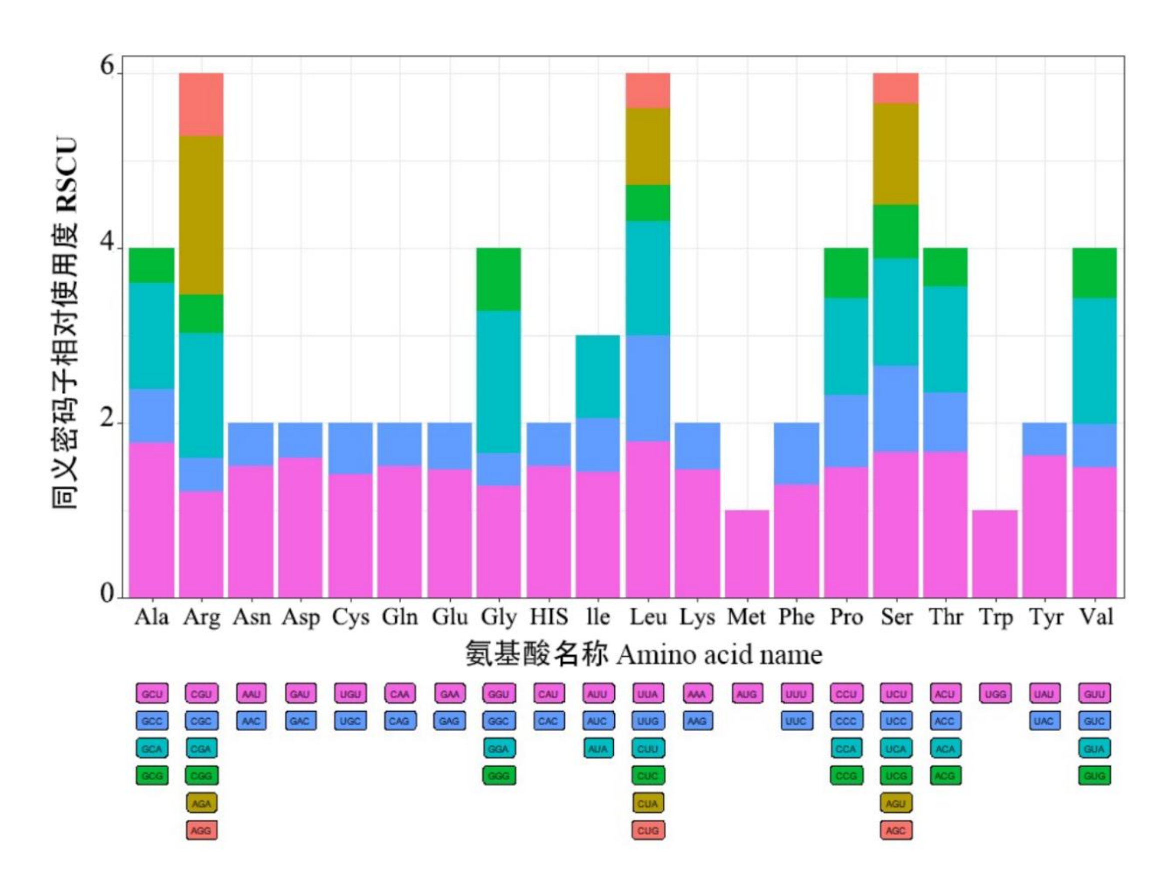


图 2 唐古红景天氨基酸 RSCU 分析

Fig. 2 RSCU analysis of each amino acid in *Rhodiola tangutica*

2.3 简单重复位点（SSR）分析

唐古红景天叶绿体基因组检测到两种不同重复单元类型的 SSR（单核苷酸和双核苷酸）共 38 个，$(A)_n$、$(T)_n$、$(AT)_n$和$(TA)_n$数量依次为 13、22、1 和 2 个。SSRs 长度介于 10~14 bp，24 个 SSRs 在 LSC，9 个在 SSC，IRA 和 IRB 各 1 个（表 4）。大多数 SSR 位点位于基因间隔（intergenic spacer，IGS）区，只有少数出现在编码（coding sequence，CDS）区（表 5）。

表 4 唐古红景天叶绿体基因组简单重复序列（SSRs）信息

Table 4 Number of SSRs identified in the chloroplast genome of *Rhodiola tangutica*

重复单元 Repeat unit	类型 Type	数量 Number	最大重复 Largest repeat
1	A	13	14
	T	22	18
2	AT	1	6
	TA	2	6
总计 Total	4	38	-

表 5 唐古红景天叶绿体基因组 SSRs 信息

Table 5 Distribution of SSRs in the chloroplast genome of *Rhodiola tangutica*

编号 NO.	SSR 类型 SSR type	SSR	大小 Size	起始 Start	终止 End	位置 Location
1	p1	$(A)_{10}$	10	3 390	3 399	*trnI-GAU*
2	p1	$(T)_{11}$	11	23 960	23 970	*matK*
3	p1	$(A)_{10}$	10	27 001	27 010	IGS（*trnK-UUU* 和 *rps16*）
4	c	(T)10gaaactgcttcatttcttagtatcaaaatagttagaatatgg ggtataaaaatggcgaatctattctctttttac$(A)_{10}$	96	29 222	29 317	IGS（*psbK~psbI*）
5	p1	$(T)_{11}$	11	29 942	29 952	IGS（*trnS-GCU~trnG-UCC*）
6	p1	$(T)_{11}$	11	30 917	30 927	*trnG-UCC*
7	p2	$(TA)_{6}$	12	31 132	31 143	IGS（*trnG-GCC~trnR-UCU*）
8	p1	$(T)_{12}$	12	33 718	33 729	*atpF*
9	p1	$(A)_{13}$	13	37 294	37 306	IGS（*rps2~rpoC2*）
10	p1	$(T)_{11}$	11	39 512	39 522	*rpoC2*
11	p1	$(T)_{10}$	10	43 619	43 628	*rpoC1*
12	p1	$(T)_{11}$	11	48 175	48 185	IGS（*rpoB~trnC-GCA*）
13	p1	$(A)_{11}$	11	48 718	48 728	IGS（*rpoB~trnC-GCA*）
14	p1	$(T)_{10}$	10	50,957	50 966	IGS（*psbM~trnD-GUC*）
15	p1	$(T)_{11}$	11	53 857	53 867	IGS（*trnT-GGU~psbD*）
16	p2	$(AT)_{6}$	12	57 880	57 891	IGS（*lhbA~trnG-UCC*）
17	p1	$(A)_{10}$	10	58 075	58 084	IGS（*trnG-UGG~trnfM-CAU*）
18	p1	$(T)_{10}$	10	68 153	68 162	*trnL-UAA*
19	p1	$(T)_{10}$	10	71 434	71 443	IGS（*ndhC~trnV-UAC*）
20	p2	$(TA)_{6}$	12	79 383	79 394	IGS（*accD~psaI*）
21	p1	$(T)_{11}$	11	84 873	84 883	IGS（*psbE~petL*）
22	p1	$(T)_{10}$	10	86 322	86 331	IGS（*psbE~petL*）
23	p1	$(T)_{10}$	10	87 346	87 355	IGS（*psaJ~rpl33*）
24	c	(T)10gagaatcataatcatcgggggtgtagtatgaatctgaggtt ttaattaattcatagggtcttaacaagagaattcctatc$(A)_{11}$	101	95 064	95 164	*petB*
25	p1	$(T)_{14}$	14	103 273	103 286	IGS（*rps3~rpl22*）
26	p1	$(T)_{10}$	10	122 323	122 332	*trnI-GAU*
27	p1	$(A)_{10}$	10	130 041	130 050	*ndhF*
28	p1	$(T)_{18}$	18	130 507	130 524	*ndhF*
29	p1	$(A)_{14}$	14	134 315	134 328	IGS（*ccsA~ndhD*）
30	p1	$(T)_{10}$	10	139 385	139 394	*ndhA*
31	p1	$(A)_{10}$	10	144 029	144 038	*ycf1*
32	c	(T)14gattcaaaatcaaaaaaaagttgtcccttgatccttattatat taataactaggacgatagcaatgtatattctttc$(A)_{11}$	102	144 660	144 761	*ycf1*
33	p1	$(A)_{11}$	11	145 219	145 229	*ycf1*
34	p1	$(T)_{10}$	10	145 353	145 362	*ycf1*
35	p1	$(A)_{11}$	11	146 682	146 692	*ycf1*

2.4 IR 区收缩和扩张与选择压力分析分析

本研究通过对红景天属 7 个物种叶绿体基因组 LSC、IRB、SSC 和 IRA 之间收缩和扩展的可视化，发现它们具有大致相似的基因组成、位置和长度（图 3）。其中，JLB（LSC/IRB）的边界基因 *rps19* 均向 IRB 区扩张 109~110 bp；JSB（IRB/SSC）的边界基因均为 *ycf1* 和 *ndhF*，除长鞭红景天、大花红景天和圣地红景天的 *ycf1* 呈现向 IRB 收缩趋势外，其他物种均向 SSC 区扩张 1~27 bp，而 *ndhF* 均向 IRB 扩张 15~61 bp。此外，红景天属 7 个物种的 *ycf1* 均跨越 JSA（SSC/IRA）边界，长度相似，全长 16 993~17 059 bp，其中 4 089~4 104 bp 位于 SSC 区，5 165~5 183 bp 位于 IRA 区；JLA（IRA/LSC）边界均位于 *trnH* 和 *rps19* 之间。因此，红景天属所有参试物种均不存在基因缺失，基因分布位置、数量、类型及扩张与收缩情况大致相同，基因组结构相对保守，变异率较低。

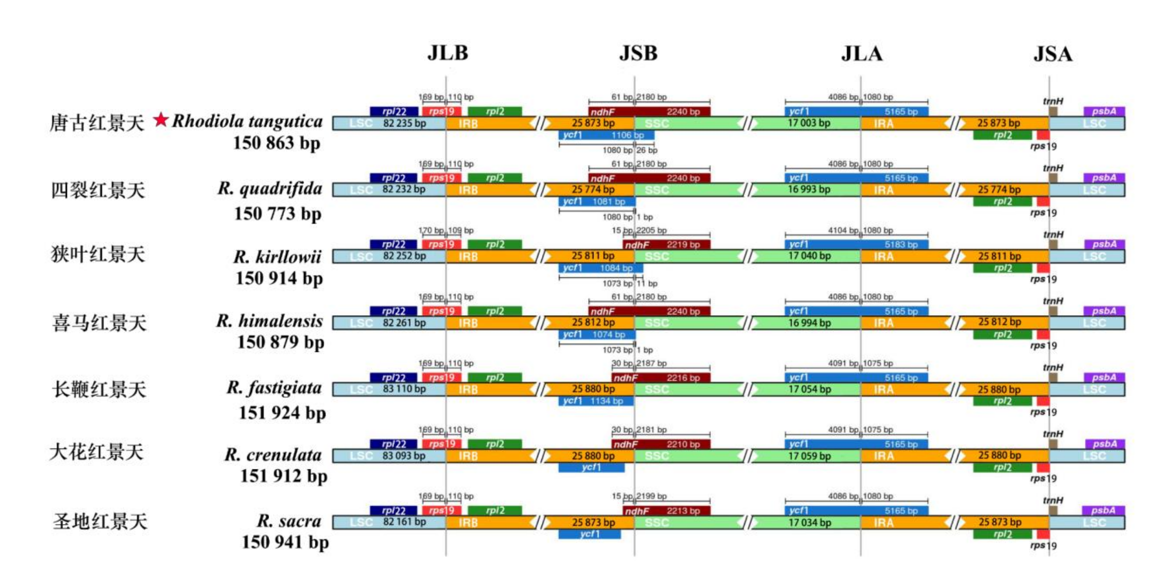


图 3 红景天属 7 个物种的叶绿体基因组 IR 区边界分析

Fig. 3 Boundary analysis of IR regions of chloroplast genomes from seven *Rhodiola* species

非同义突变率(Ka)和同义突变率(Ks)的比值可以表示受到何种选择作用，Ka/Ks 值大于 1 表明受到正选择效应，小于 1 说明受到纯化选择作用。Ka/Ks＞0 的基因如图 4 所示，不同蛋白编码基因的核苷酸替代速率是不同的。Ka/Ks＞1 基因中，唐古红景天（*R. tangutica*）的 *psaB* 基因处于正选择压力下，其他物种的 *psaB* 基因经历纯化选择作用；唐古红景天（*R. tangutica*）和四裂红景天（*R.*

quadrifida）的 *accD* 基因经历纯化选择作用，其余两个物种的 *accD* 基因处于正选择压力下。

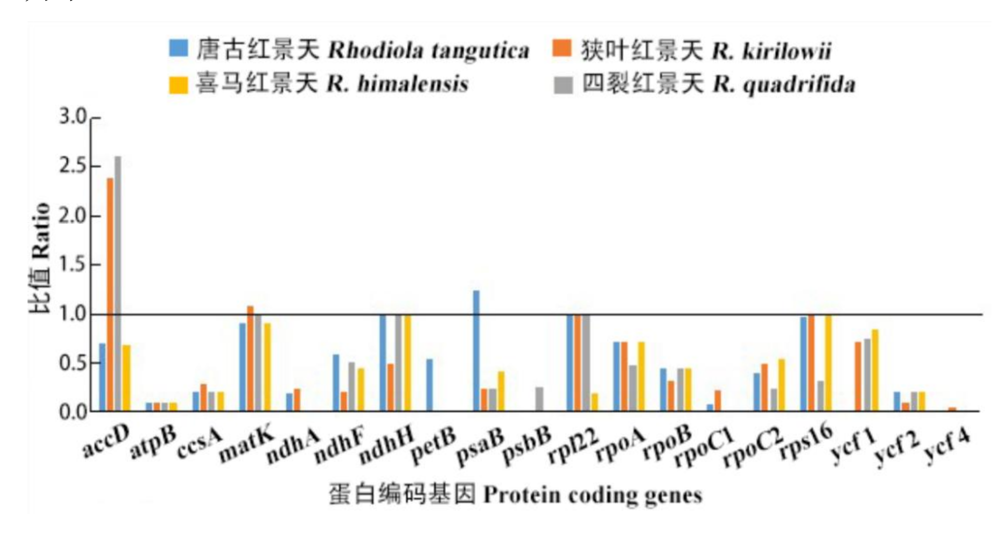


图 4 唐古红景天及其近缘物种 Ka 和 Ks 替换率分析

Fig. 4 Analysis of Ka and Ks substitution rates among *Rhodiola tangutica* and relative species

2.5 系统进化分析与分歧时间估计

以欧李为外类群（Outgroup），基于红景天属 24 个物种叶绿体基因组序列，本研究成功构建了红景天属的最大似然（ML）树，结果显示红景天属 24 个物种构成靴带支持率（bootstrap）较高（100%）的一个单系类群（图 5）。该类群由 Clade1 和 Clade2 两大分支构成，其中 Clade1 由小丛红景天（*R. dumulosa*）、红花红景天（*R. rhodantha*）、粗茎红景天（*R. wallichiana*）、托花红景天（*R. stapfii*）、六叶红景天（*R. sexifolia*）、背药红景天（*R. hobsonii*）、柴胡红景天（*R. sinuata*）、矮生红景天（*R. humilis*）、四轮红景天（*R. prainii*）和卵萼红景天（*R. ovatisepala*）组成，Clade2 由大果红景天（*R. macrocarpa*）、长鳞红景天（*R. gelida*）、红景天（*R. rosea*）、美花红景天（*R. calliantha*）、柴胡红景天（*R. bupleuroides*）、云南红景天（*R. yunnanensis*）、长鞭红景天（*R. fastigiata*）、大花红景天（*R. crenulata*）、圣地红景天（*R. sacra*）、唐古红景天（*R. tangutica*）、四裂红景天（*R. quadrifida*）、狭叶红景天（*R. kirilowii*）和喜马红景天（*R. himalensis*）构成，唐古红景天位于 Clade2 中，与四裂红景天的亲缘关系最近（图 5）。

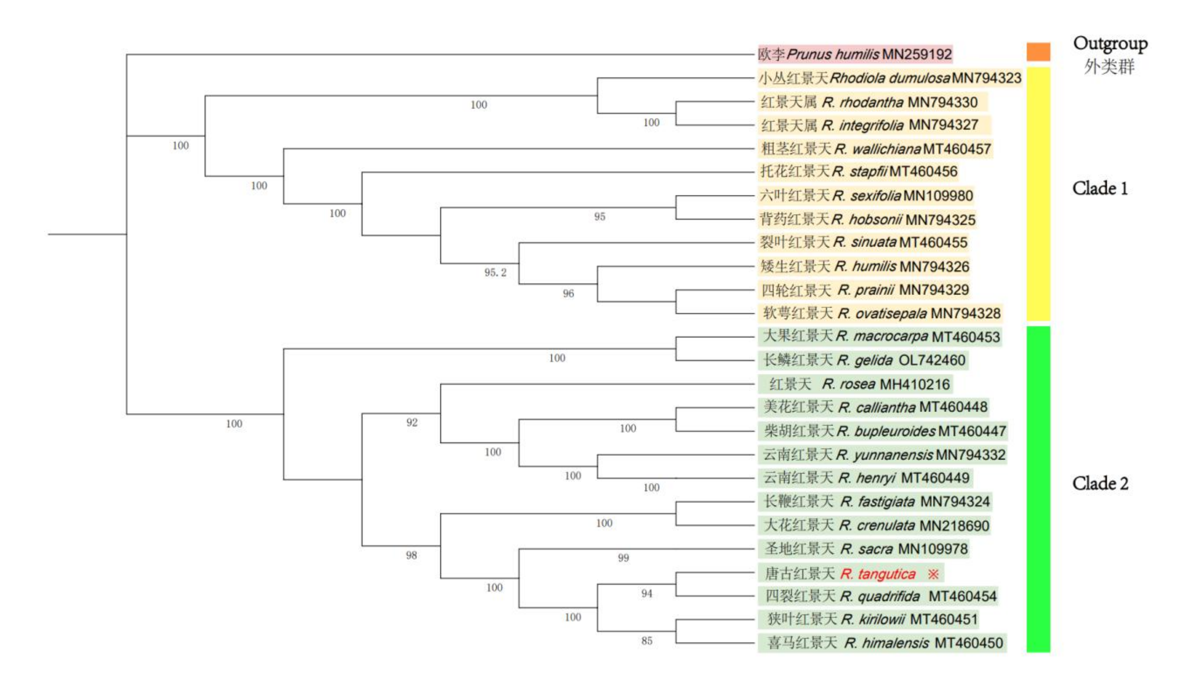
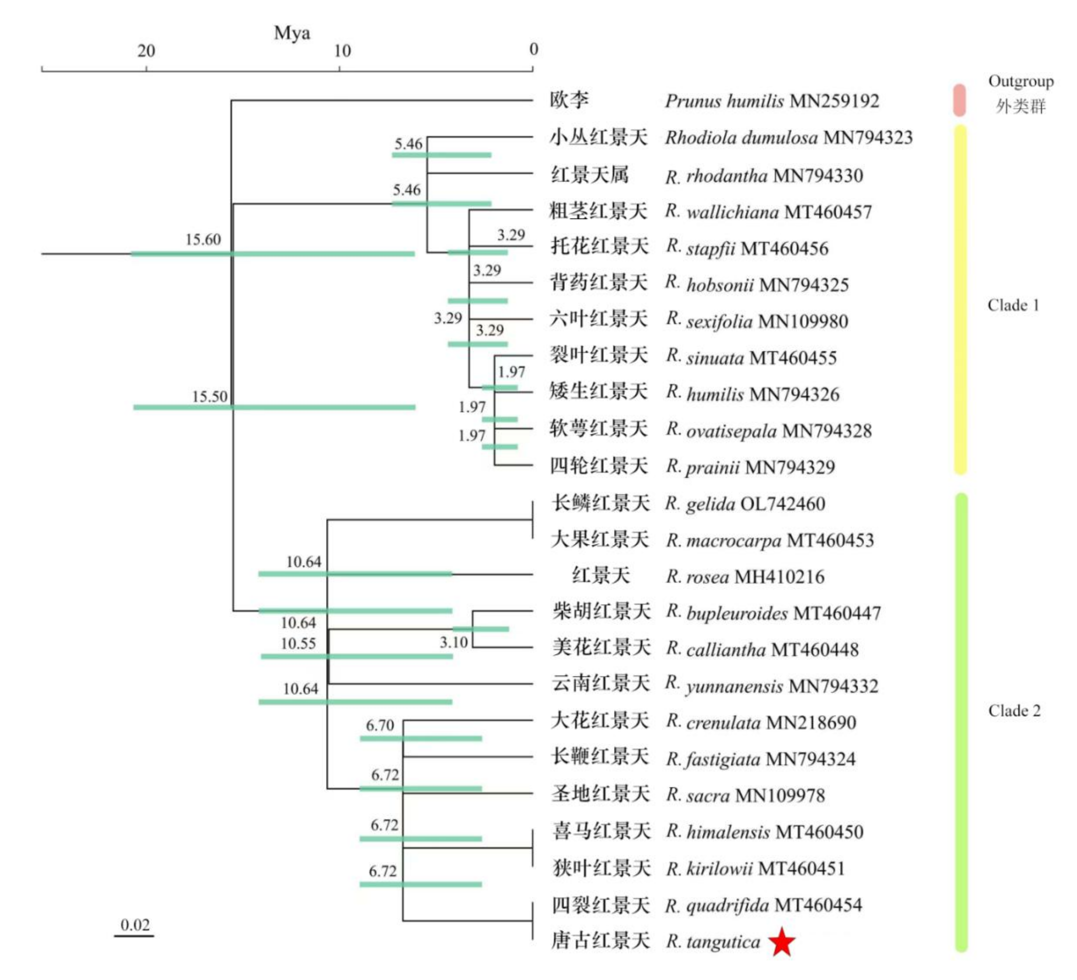


图 5 基于红景天属 24 个物种叶绿体基因组序列构建的系统发育树

Fig. 5 Phylogenetic tree constructed based on 24 chloroplast genomes from *Rhodiola* species

基于红景天属物种系统发育树的时间估计结果见图 6，红景天属 *Rhodiola* 的起源时间平均为 15.50 Mya（95% HPD：6.0-21.0 Mya），Clade1 和 Clade2 开始分化，发生在中新世的中期。主要进化枝进一步的分化时间从 1.97 Mya（95% HPD：0.77-2.63 Mya）至 10.64 Mya（95% HPD：4.16-14.18 Mya）。



绿色条带代表 95%最高后验密度区间（95% HPD）。

Green bars represent 95% high posterior density.

图 6 基于红景天属物种系统发育树的分歧时间估计

Fig. 6 Divergence time of *Rhodiola* species was based on phylogenetic tree

3 讨论与结论

叶绿体是一种具有独立完整基因组的细胞器，也是高等绿色植物进行光合作用的重要场所，结构相对保守，基因组长度介于 120~180 kb，编码 100~130 个基因（Xu et al., 2020; 余涛等，2022）。本研究结果表明，唐古红景天的叶绿体基因组具有典型的四分体环状结构，全长 150 863 bp，共编码 131 个基因，总 GC 含量为 37.8%，IR 区 GC 含量高于 LSC 和 SSC 区；基因可被划分为光合作用基因、自我复制基因、其他基因和未知功能基因，这与先前报道的红景天属其他物种叶绿体基因组的结构、特征和功能类别相似（赵丹妮，2020；张雨等，2022；Zhao et al., 2022），如 Zhao 等（2022）通过对红景天属 6 个物种叶绿体基因组的组装，发现其基因组大小处于 150 771~151 891 bp、GC 含量为 37.7%~37.8%

且基因数量以及 SSC、LSC 和 IR 区域的长度与本研究结果类似，说明本研究中唐古红景天叶绿体基因组的组装质量较好，注释信息准确，同时表明红景天属物种的叶绿体基因组具有高度的相似性。此外，我们也认为 IR 反向重复区所含的 rRNA 具有较高的 GC 含量是导致 IR 区 GC 含量较高的主要原因（Zhang et al., 2012）。

密码子偏好性指植物特定密码子频率高于同义密码子频率的现象，对基因功能和编码蛋白的表达具有重要影响，在基因进化、物种起源等方面具有重要的参考价值（叶友菊等，2018；苏丹丹等，2022）。唐古红景天叶绿体基因组密码子 RSCU 值大于 1 的相对同义密码子共 29 种，且具有明显的 AU 偏好性（仅 UUG 以 G 结尾，其他均以 A/U 结尾），我们推测这可能是由于 A、U 碱基含量较高以及核苷酸突变和回复突变引起的（Du et al., 2020；张雨等，2022）。简单重复序列是高等真核生物叶绿体基因组中长度范围位于 1~6 bp 的重复序列（Yuan et al., 2021；毛轩睿等，2022），多态性高、含量丰富和重组率低等优点（Powell et al., 1995; Pugh et al., 2004），于物种界定、遗传多样性和指纹图谱构建等研究领域得到了广泛应用（Kane & Cronk, 2008; Asaf et al., 2017）。唐古红景天叶绿体基因组 SSR 仅由单核苷酸（35 个）和二核苷酸（3 个）组成，且二核苷酸重复均为 AT/TA，这与已报道的大部分被子植物相同，说明叶绿体基因组的 SSRs 主要由短 poly A 和 poly T 构成，而非 C 或 G 的串联重复（Pugh et al., 2004）。

先前研究表明，叶绿体基因组长度差异和结构变异往往是由于 IR、LSC 和 SSC 区的扩张和收缩造成的（Huang et al., 2014；蒋明等，2021）。本研究通过比较红景天属 7 个物种叶绿体基因组边界区的收缩和扩展，发现 JLB 边界均位于 *rps19* 基因区间；除长鞭红景天、大花红景天和圣地红景天的 *ycf1* 向 IRB 收缩而偏离 JSB 边界外，其他物种的 IRB/SSC 边界均位于 *ycf1* 和 *ndhF* 的重叠区；JSA 和 JLA 边界的基因种类、长度和位置等基本相似，尤其与亲缘关系最近的四裂红景天更是如此，两者在基因大小、跨区及分布位置等方面呈现高度一致性。因此，本研究认为红景天属物种的叶绿体基因组结构高度保守，JLB、JSB、JSA 和 JLA 的边界变化可能是 IR 区扩张与收缩的主要原因。为进一步分析各物种之间的进化程度，将唐古红景天与其近缘物种的蛋白编码基因进行 Ka/Ks 分析，Ka/Ks 比率通常用于评估蛋白编码基因的分化速度。Ka/Ks 比率表明基因经历正

向选择（>1）、中性选择（接近 1）或纯化选择（<1）。本研究中唐古红景天的 *psaB* 基因经历强烈的正选择，*accD* 基因在不同物种间显示出显著差异。

目前，叶绿体基因组序列已被广泛应用于植物系统进化和亲缘关系鉴定的研究（Nock et al., 2011）。红景天属植物是中国西北地区的一种传统中藏药，种间和种内形态变异复杂，系统位置和亲缘关系存在争议，物种界定及系统发育研究困难较大（贺美艳和张小龙，2012）。为了澄清红景天属部分物种的系统位置和亲缘关系，构建合理的系统发育关系，本研究通过叶绿体基因组序列分析红景天属 24 个物种的系统发育关系，结果发现红景天属所有参试物种构成一个靴带支持率高达 100%的单系类群，其被明显划分为两大分支，唐古红景天与四裂红景天互为姊妹群，两者具有较近的亲缘关系。本研究获得的红景天属系统发育树的拓扑结构与 Yu 等（2023）利用叶绿体基因组序列和 Zhang 等（2014）基于 5 个 DNA 条形码（*rbcL*、*matK*、*trnH-psbA*、*trnL-F* 和内部转录间隔区）构建的红景天属系统发育关系基本一致，认为本研究基于叶绿体基因组序列构建的系统发育树较为准确可靠。此外，胡挺松等（2004）利用 RAPD 分子标记探讨了红景天属物种的亲缘关系，发现大花红景天与长鞭红景天聚为一支，亲缘关系较近；倪念春等（2004）采用 UPGMA 聚类分析同样认为大花红景天与长鞭红景天亲缘关系较近，这也得到本研究结果的进一步印证，从而再次表明本研究获得的红景天属的系统发育关系是较为合理的。基于分歧时间分析表明，导致红景天属分化的快速多样性分化事件可能发生在 15.50 Mya 前，每个主要的进化枝进一步多样化，产生了许多现存物种。因为化石记录的不完整，后续研究中需要结合更全面的测试，以此获得更可靠的校准点（Zhang et al., 2014）。因此，本研究结果不仅提供了红景天属物种较为合理的系统发育关系，而且还可为将来红景天属遗传多样性、适应性进化以及种质资源保护等提供理论依据。

参考文献

AMIRYOUSEFI A, HYVÖNEN J, POCZAI P, 2018. IRscope: an online program to visualize the junction sites of chloroplast genomes [J]. Bioinformatics, 34: 3030-3031.

ASAF S, WAQAS M, KHAN AL, et al., 2017. The complete chloroplast genome of wild rice (*Oryza minuta*) and its comparison to related species [J]. Front Plant Sci, 8: 304.

BEIER S, THIEL T, MÜNCH T, et al., 2017. MISA-web: a web server for microsatellite prediction [J]. Bioinformatics, 33: 2583-2585.

CORRIVEAU JL & COLEMAN AW, 1988. Rapid screening method to detect potential biparental inheritance of plastid DNA and results for over 200 angiosperm species [J]. Am J Bot, 75(10): 1443-1458.

DANIELL H, LIN CS, YU M, et al., 2016. Chloroplast genomes: diversity, evolution, and applications in genetic engineering [J]. Genome Biol, 17(1): 134.

DOYLE JJ & DOYLE JL, 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue [J]. Phytochem Bull, 19: 11-15.

DIERCKXSENS N, MARDULYN P, SMITS G, 2017. NOVOPlasty: de novo assembly of organelle genomes from whole genome data [J]. Nucleic Acids Res, 45: e18.

DING BC, SUN Y, RONG FX, et al., 2020. The complete mitochondrial genome of *Holothuria spinifera* (Théel, 1866) [J]. Mitochondrial DNA Part B, 5: 1679-1680.

DU XY, ZENG T, FENG Q, et al., 2020. The complete chloroplast genome sequence of yellow mustard (*Sinapis alba* L.) and its phylogenetic relationship to other *Brassicaceae* species [J]. Gene, 731: 144340.

Editorial Committee of Flora of China, Chinese Academy of Sciences, 1984. Flora reipublicae Popularis Sinicae [M]. Beijing: Science Press. [中国科学院中国植物志编委会，1984. 中国植物志[M]. 北京: 科学出版社]

GAO XZ, TANG L, WANG Y, et al., 2024. Intraspecific genetic variation within chloroplast genome of a rare and endangered species *Paphiopedilum parishii* (Orchidaceae) [J]. Guihaia, 44（1）: 1-14. [高鑫祯，唐露，汪雨，等，2023. 珍稀濒危飘带兜兰叶绿体全基因组种内变异研究[J]. 广西植物，44（1）：1-20.]

GUINDON S, DUFAYARD JF, LEFORT V, et al., 2010. New algorithms and methods to estimate maximum-Likelihood phylogenies: assessing the performance of PhyML 3.0 [J]. Syst Biol, 59: 307-321.

HE MY & ZHANG XL, 2012. Study on the optimized extraction technology of *Rhodiola Algida* [J]. Chin J Mod Appl Pharm, 29(6): 495-497. [贺美艳，张小龙，2012. 唐古特红景天提取工艺研究[J]. 中国现代应用药学，29(6)：495-497.]

HE SL, MA LF, YANG JJ, et al., 2013. Effects of different concentrations of urea solution on seed germination of *Rhodiola algida* var. *Tangutica* [J]. Northern Horticulture, 3: 173-175. [何淑玲，马令法，杨敬军，等，2013. 不同浓度尿素对唐古特红景天种子萌发的影响[J]. 北方园艺，3：173-175.]

HUANG H, SHI C, LIU Y, et al., 2014. Thirteen *Camellia* chloroplast genome sequences determined by high-throughput sequencing: genome structure and phylogenetic relationships [J]. BMC Evol Biol, 14: 151.

HU TS, LU YM, MA LQ, et al., 2004. Identification of four *Rhodiola* L. plants by RAPD [J]. Chinese Traditional and Herbal Drug, 11: 90-93. [胡挺松，陆一鸣，马兰青，等，2004. 红景天属 4 种植物 RAPD 分析与分类鉴定[J]. 中草药，11：90-93.]

JANSEN RK, KAITTANIS C, SASKI C, et al., 2006. Phylogenetic analyses of *Vitis* (Vitaceae) based on complete chloroplast genome sequences: effects of taxon sampling and phylogenetic methods on resolving relationships among rosids [J]. BMC Evol Biol, 6: 32.

JIANG WJ, GUO MY, PANG XH. et al., 2020. Application of chloroplast genome in identification and phylogenetic analysis of medicinal plants [J]. World Chinese Medicine, 15(5): 702-708. [姜汶君，郭梦月，庞晓慧，2020. 叶绿体基因组在药用植物鉴定及系统进化研究中的应用[J]. 世界中医药，15(5)：702-708.]

JIANG ZZ, HU SB, YANG HD, et al., 2023. Comparative evolution of *Trichosanthes* based on chloroplast genomes [J]. Journal of Anqing Normal University (Natural Science Edition), 29(2): 87-95. [江转转，胡淑宝，杨浩东，等，2023. 基于叶

绿体基因组比较栝楼属植物的演化[J]. 安庆师范大学学报(自然科学版)，29(2)：87-95.]

JIA J C & HAN T, 2005. Mechanism of *Rhodiola rosea* [J]. Western Journal of Traditional Chinese Medicine, 11: 47-49. [贾建昌和韩涛，2005. 红景天抗疲劳作用机理的研究进展[J]. 西部中医，11：47-49.]

JIANG M, WANG JF, ZHU Y, et al., 2021. Structure, sequence characteristics, and phylogenetic evolution analysis of *Belamcanda chinensis* chloroplast genome [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 52(13): 4039-4046. [蒋明，王军峰，朱晏，等，2021. 射干叶绿体基因组结构、序列特征与系统发育分析[J]. 中草药，52(13)：4039-4046.]

KANE NC & CRONK Q, 2008. Botany without borders: barcoding in focus [J]. Mol Ecol, 17(24): 5175-5176.

KATOH K, MISAWA K, KUMA K, et al., 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform [J]. Nucleic Acids Res, 30: 3059-3066.

LIANG FP, WEN XN, GAO HY, et al., 2018. Analysis of chloroplast genomes features of Asteraceae species [J]. Genomics and Applied Biology, 37(12): 5437-5447. [梁凤萍，文祥宁，高赫一，等，2018. 菊科植物叶绿体基因组特征分析[J]. 基因组学与应用生物学，37(12)：5437-5447.]

LIBRADO P & ROZAS J. 2009. DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data [J]. Bioinformatics, 25: 1451-1452.

LIU C, LÜ YQ, SHI ZL, et al., 2023. Characteristics of chloroplast genomes and phylogenetic analysis of *Artemisia* species [J]. Journal of Northwest Forestry University, 38(3): 78-86. [刘潮，吕雁秋，施枝丽，等，2023. 蒿属植物叶绿体基因组特征及进化[J]. 西北林学院学报，38(3)：78-86.]

LI Y, WANG XF, LI J, et al., 2014. Extraction of chemical components from *Rhodiola tangutica* by different solvents and its salidroside content determination [J]. Journal of Gansu Agricultural University, 49(5): 63-69. [李王

莹，王兴芳，李军，等，2014. 不同溶剂提取唐古特红景天化学成分的比较及红景天苷含量的测定[J]. 甘肃农业大学学报，49(5)：63-69.]
LOHSE M, DRECHSEL O, KAHLAU S, et al., 2013. OrganellarGenomeDRAW: a suite of tools for generating physical maps of plastid and mitochondrial genomes and visualizing expression data sets [J]. Nucleic Acids Res, 41: W575-W581.
MAO XR, LIU YP, SU X, et al., 2022. Characteristics analysis of simple sequence repeat (SSR) loci in *Psammochloa villosa* (Poaceae) based on transcriptome data [J]. Acta Agrestia Sinica, 30(8): 1990-2001. [毛轩睿，刘玉萍，苏旭，等，2022. 沙鞭转录组简单重复序列（SSR）位点特征分析[J]. 草地学报，30(8)：1990-2001.]
NGUYEN LT, SCHMIDT HA, VON HAESELER A, et al., 2015. IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies [J]. Mol Biol Evol, 32: 268-274.
NOCK CJ, WATERS DLE, EDWARDS MA, et al., 2011. Chloroplast genome sequences from total DNA for plant identification [J]. Plant Biotechnol J, 9(3): 328-333.
NI NC & WANG WH, 2004. Molecular identification of common medicinal *Rhodiola rosea* in Yunnan [J]. Journal of Shanxi University of Chinese Medicine, 5(3): 48-52. [倪念春和王卫华，2004. 云南常见药用红景天的分子鉴定研究[J]. 山西中医学院学报，5(3)：48-52.]
POWELL W, MORGANTE M, MCDEVITT R, et al., 1995. Polymorphic simple sequence repeat regions in chloroplast genomes: applications to the population genetics of pines [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 92: 7759-7763.
PUGH T, FOUET O, RISTERUCCI AM, et al., 2004. A new cacao linkage map based on codominant markers: development and integration of 201 new microsatellite markers [J]. Theor Appl Genet, 108: 1151-1161.
QU XJ, MOORE M, LI DZ, et al., 2019. PGA: a software package for rapid, accurate, and flexible batch annotation of plastomes [J]. Plant Methods, 15:1-12.
RAMAN G, PARK KT, KIM JH, et al., 2020. Characteristics of the completed chloroplast genome sequence of *Xanthium spinosum*: comparative analyses,

identification of mutational hotspots and phylogenetic implications [J]. BMC Genom, 22(2): 855.

SHI GM, JU XT, YANG L, et al., 2021. Callus induction and plant regeneration of *Rhodiola tangutica* [J]. Molecular Plant Breeding, 21(16): 5411-5418. [史国民，巨秀婷，杨莉娜，等，2021. 唐古红景天愈伤组织诱导及植株再生[J]. 分子植物育种，21(16)：5411-5418.]

SHARP PM & LI WH, 1987. The codon adaptation index-a measure of directional synonymous codon usage bias, and its potential applications [J]. Nucleic Acids Res, 15: 1281-1295.

SHIELDS DC & SHARP PM, 1987. Synonymous codon usage in *Bacillus subtilis* reflects both translational selection and mutational biases [J]. Nucleic Acids Res, 15: 8023-8040.

SU DD, LIU YP, LIU T, et al., 2022. Structure of chloroplast genome and its characteristics of *Sphaerophysa salsula* [J]. Bulletin of Botanical Research, 42(3):446-454. [苏丹丹，刘玉萍，刘涛，等，2022. 苦马豆叶绿体基因组结构及其特征分析[J]. 植物研究，42(3)：446-454.]

SUZUKI N, KOUSSEVITZKY S, MITTLER R, et al., 2012. ROS and redox signaling in the response of plants to abiotic stress [J]. Plant Cell and Environ, 35(2): 259-270.

SONG J, LONG YH, LIN LM, et al., 2017. Analysis on structure and phylogeny of chloroplast genomes in *Araliaceae* species [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 48(24): 5070-5075. [宋菊，龙月红，林丽梅，等，2017. 五加科植物叶绿体基因组结构与进化分析[J]. 中草药，48(24)：5070-5075.]

TAI TH & TANKSLEY SD, 1990. A rapid and inexpensive method for isolation of total DNA from dehydrated plant tissue [J]. Plant Mol Biol Rep, 8(4): 297-303.

TILLICH M, LEHWARK P, PELLIZZER T, et al., 2017. GeSeq-versatile and accurate annotation of organelle genomes [J]. Nucleic Acids Res, W1(3): W6-11.

TWYFORD AD & NESS RW, 2017. Strategies for complete plastid genome sequencing [J]. Mol Ecol Resour, 17(5): 858-868.

WANG XQ, LI JB, ZHANG HY, et al., 1992. Experimental study on the anti-tumor effect of Rhodosin [J]. Jilin Journal of Chinese Medicine, 1992(3): 40. [王秀清，李静波，张洪源，等，1992. 红景天素抗肿瘤作用的实验研究[J]. 吉林中医药，1992(3)：40.]

XU WB, XIA BS, LI XW, 2020. The complete chloroplast genome sequences of five pinnate-leaved *Primula* species and phylogenetic analyses [J]. Sci Rep, 10: 20782.

YU XL, WEI P, CHEN ZYF, et al., 2023. Comparative analysis of the organelle genomes of three *Rhodiola* species provide insights into their structural dynamics and sequence divergences [J]. BMC Plant Biol, 23: 156.

YU T, PU F, GUAN Q, et al., 2022. Characteristics of chloroplast genome and phylogenetic analysis of *Euphorbia peplus* [J]. Molecular Plant Breeding, 20(6): 1828-1837. [余涛，蒲芬，管芹，等，2022. 南欧大戟叶绿体基因组特征及其系统发育分析[J]. 分子植物育种，20(6)：1828-1837.]

YE YJ, NI ZX, BAI TD, et al., 2018. The analysis of chloroplast genome codon usage bais in *Pinus massoniana* [J]. Genomics and Applied Biology, 37(10): 4464-4471. [叶友菊，倪州献，白天道，等，2018. 马尾松叶绿体基因组密码子偏好性分析[J]. 基因组学与应用生物学，37(10)：4464-4471.]

YANG YM, JIAO J, FAN XC, et al., 2019. Complete chloroplast genome sequence and characteristics analysis of *Vitis ficifolia* [J]. Acta Horticulturae Sinica, 46(4): 635-648. [杨亚蒙，焦健，樊秀彩，等，2019. 桑叶葡萄叶绿体基因组及其特征分析[J]. 园艺学报，46(4)：635-648.]

YUAN JB, ZHANG XJ, WANG M, et al., 2021. Simple sequence repeats drive genome plasticity and promote adaptive evolution in penaeid shrimp [J]. Commun Biol, 4: 186.

ZHAO KH, LI LQ, QUAN H, et al., 2022. Comparative analyses of chloroplast genomes from six *Rhodiola* species: variable DNA markers identification and phylogenetic relationships within the genus [J]. BMC Genom, 23: 577.

ZHENG CY, SU X, LIU YP, et al., 2022. Characteristics of complete chloroplast genome and phylogenetic analysis of *Cirsium souliei* (Asteraceae) [J]. Acta

Pharmaceutica Sinica, 57(7): 2224-2233. [郑长远，苏旭，刘玉萍，等，2022. 葵花大蓟叶绿体基因组结构特征及系统发育分析[J]. 药学学报，57(7)：2224-2233.]

ZHANG JQ, MENG SY, ALLEN GA, et al., 2014. Rapid radiation and dispersal out of the Qinghai-Tibetan Plateau of an alpine plant lineage *Rhodiola* (Crassulaceae) [J]. Molecular Phylogenetics and Evolution, 77: 147-158.

ZHANG TW, FANG YJ, WANG XM, et al., 2012. The complete chloroplast and mitochondrial genome sequences of *Boea hygrometrica:* insights into the evolution of plant organellar genomes [J]. PLoS One, 7(1): e30531.

ZHANG Y, SU X, LIU YP, et al., 2022. Characteristics of complete chloroplast genome and phylogenetic analysis of *Rhodiola himalensis* (Crassulaceae) [J]. Bulletin of Botanical Research, 42(4): 602-612. [张雨，苏旭，刘玉萍，等，2022. 喜马红景天叶绿体基因组特征及其系统发育分析[J]. 植物研究，42(4)：602-612.]

ZHAO DN, 2020. Phylogeny of *Rhodiola* based on plastomes [D]. Xi’an: Shaanxi Normal University. [赵丹妮，2020. 基于质体基因组的红景天属（景天科）系统学研究[D]. 西安：陕西师范大学.]

ZHANG JQ, MENG SY, ALLEN GA, et al, 2014. Rapid radiation and dispersal out of the Qinghai-Tibetan Plateau of an alpine plant lineage *Rhodiola* (Crassulaceae) [J]. Mol Phylogenet Evol, 77: 147-158.

ZHANG DX & KONG LL, 2023. Genome sequencing and characteristic analysis of *Cercidiphyllum japonicum* [J]. Molecular Plant Breeding, 21(17): 5654-5662. [张东旭和孔丽丽，2023. 连香树叶绿体基因组测序与特征分析[J]. 分子植物育种，21(17)：5654-5662.]